

REC'D PCT/PTO 02 MAY 2005

PCT/NL

03707533447

(H)

KONINKRIJK DER



NEDERLANDEN



Bureau voor de Industriële Eigendom

REC'D 24 NOV 2003
WIPO PCT

Hierbij wordt verklaard, dat in Nederland op 31 oktober 2002 onder nummer 1021800,
ten name van:

PLANT RESEARCH INTERNATIONAL B.V.

te Wageningen

een aanvraag om octrooi werd ingediend voor:

"Werkwijze en inrichting voor het maken van beelden van de kwantumefficiëntie van het
fotosynthesesysteem met tot doel het bepalen van de kwaliteit van plantaardig materiaal en
werkwijze en inrichting voor het meten, classificeren en sorteren van plantaardig materiaal",
en dat de hieraan gehechte stukken overeenstemmen met de oorspronkelijk ingediende stukken.

Rijswijk, 10 november 2003

De Directeur van het Bureau voor de Industriële Eigendom,
voor deze,

Mw. I.W. Scheevelbos-de Reus

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1024800

B. v.d. I.E.

31 OKT. 2002

UITTREKSEL

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkijze voor het bepalen van de kwaliteit van plantaardig materiaal door het maken van chlorofylfluorescentiebeelden van dat materiaal door het materiaal te scannen met een bundel van elektromagnetische straling zodat het aanwezige chlorofyl wordt aangeslagen, en de chlorofylfluorescentie te meten met een beeldvormende detector. Uit de met een snelle en een langzame scan verkregen fluorescentiebeelden wordt het beeld van de kwantumefficiëntie van het fotosynthesesysteem van het plantaardige materiaal berekend. De uitvinding heeft verder betrekking op een inrichting voor het meten van chlorofylfluorescentiebeelden en op werkijken en inrichtingen voor het sorteren en classificeren van plantaardig materiaal.

1. FF

I U 6 I O U U

B. v.d. I.E.

31 OKT. 2002

- 1 -

Reg. nr. NLP 167843.PB/

WERKWIJZE EN INRICHTING VOOR HET MAKEN VAN BEELDEN VAN DE
5 KWANTUMEFFICIENTIE VAN HET FOTOSYNTHESYSTEM MET TOT DOEL
HET BEPALEN VAN DE KVALITEIT VAN PLANTAARDIG MATERIAAL EN
WERKWIJZE EN INRICHTING VOOR HET METEN, CLASSIFICEREN EN
SORTEREN VAN PLANTAARDIG MATERIAAL

10 De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een
werkwijze voor het bepalen van de kwaliteit van plantaardig
materiaal, zoals bijvoorbeeld hele planten, bladmateriaal,
fruit, vruchten, bessen, bloemen, bloemorganen, wortels,
zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten, door
15 het maken van chlorofylfluorescentiebeelden, in het bijzon-
der een werkwijze waarbij uit de gemeten chlorofylfluores-
centiebeelden een karakteristiek chlorofylfluorescentie-
beeld wordt berekend en meer in het bijzonder een werkwijze
waarbij dat karakteristieke fluorescentiebeeld informatie
20 bevat over de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactivi-
teit van het fotosynthesesysteem van het plantaardige
materiaal. De onderhavige uitvinding heeft verder betrek-
king op een inrichting voor het meten van de chlorofylfluo-
rescentiebeelden en daaruit het berekenen van het beeld van
25 de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit van het
fotosynthesesysteem van plantaardig materiaal. Tevens heeft
de onderhavige uitvinding betrekking op een inrichting voor
het sorteren en classificeren van plantaardig materiaal op
basis van de chlorofylfluorescentiebeelden en het daaruit
30 berekende beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyn-
theseactiviteit van het fotosynthesesysteem van het plant-
aardige materiaal.

Stand der techniek

De gebruikelijke meetmethode om de kwantumef-
35 ficiëntie van de fotosyntheseactiviteit te meten van
plantaardig materiaal, is het meten van de fotosyntheseac-
tiviteit met de pulse amplitude modulation (PAM) fluorome-

ter van U. Schreiber, beschreven in "Detection of rapid induction kinetics with a new type of high frequency modulated chlorophyll fluorometer" Photosynthesis Research (1986) 9: 261-272. Bij deze werkwijze wordt de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit bepaald. Men meet hiertoe eerst in het donker of bij een lage lichtintensiteit van het omgevingslicht de fluorescentieopbrengst, F_0 . Daarna wordt bij een verzadigende lichtpuls de maximale fluorescentieopbrengst bepaald, F_m . Uit de twee meetsignalen kan de efficiëntie van het fotosynthesesysteem worden berekend volgens $Q = (F_m - F_0) / F_m$. Deze meetmethode bepaalt van een klein oppervlak van een blad de efficiëntie van het fotosynthesesysteem, een zogenaamde spotmeting en is dus niet beeldvormend.

15 Bekende meetmethoden die beeldvormend zijn, werken
volgens hetzelfde principe als de PAM fluorometer. Een
bekende meetmethode is die van B. Genty and S. Meyer,
beschreven in "Quantitative mapping of leaf photosynthesis
using chlorophyll fluorescence imaging" Australian Journal
20 of Plant Physiology (1995) 22: 277-284. Bij deze werkwijze
wordt het oppervlak van het plantaardige materiaal, bijv.
een blad, met korte pulsen bestraald met elektromagnetische
straling van een lamp en wordt gedurende de pulsen de
fluorescentie met een camerasytem gemeten. Deze eerste
25 meting vindt plaats in het donker of bij een lage lichtin-
tensiteit en levert de F0 meting. De volgende meting wordt
uitgevoerd onder een verzadigende lichtpuls en levert de Fm
meting. Uit deze metingen kan een beeld worden berekend van
de efficiëntie van het fotosynthesesytem. Nadeel van deze
30 werkwijze is dat een groot oppervlak van bijv. 50x50 cm²
niet met een verzadigende lichtpuls kan worden bestraald.
De huidige lichtbronnen zijn niet lichtsterk genoeg om een
dergelijk oppervlak van voldoende lichtintensiteit te
bestralen.

35 Samenvatting van de uitvinding

De onderhavige uitvinding heeft als doel een werkwijze te verschaffen om beeldvormend de chlorofylfluo-

rescentie te meten en uit de verkregen chlorofylfluorescentiebeelden de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit van plantaardig materiaal te bepalen, waarbij het nadeel van het kleine meetoppervlak van de bekende meetmethoden wordt opgeheven.

De onderhavige uitvinding voorziet derhalve in een werkwijze voor het bepalen van de kwaliteit van plantaardig materiaal door het bepalen van een chlorofylfluorescentiebeeld van dat plantaardige materiaal, waarbij het plantaardige materiaal wordt bestraald met een bundel van elektromagnetische straling die een of meer zodanige golflengten omvat, dat ten minste een deel van het aanwezige chlorofyl door ten minste een deel van de straling wordt aangeslagen, waarbij de bundel van elektromagnetische straling een zodanige vorm heeft dat slechts een klein gedeelte van het plantaardige materiaal bestraald wordt, en de bundel zodanig over het plantaardige materiaal wordt bewogen dat een groter gedeelte van het plantaardige materiaal wordt gemeten, waarbij de van het plantaardige materiaal afkomstige fluorescentiestraling behorende bij de chlorofylovergang met een beeldvormende detector gemeten wordt ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld.

De voorkeur heeft een degelijke werkwijze, waarbij, in willekeurige volgorde, gedurende een bepaalde tijdsduur met de elektromagnetische bundel meerdere snelle scans over het plantaardig materiaal gemaakt worden ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld Ffast, en gedurende een bepaalde tijdsduur met de elektromagnetische bundel een langzame scan over het plantaardig materiaal gemaakt wordt ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld Fslow, en vervolgens uit de chlorofylfluorescentiebeelden Ffast en Fslow het karakteristieke chlorofylfluorescentiebeeld dat een maat is voor de efficiëntie van het fotosynthesesysteem van het plantaardige materiaal, wordt berekend.

Bij voorkeur bevat het karakteristieke chlorofylfluorescentiebeeld informatie over de kwantumefficiëntie

van de fotosyntheseactiviteit van het fotosynthesesysteem van het plantaardige materiaal en wordt dit beeld berekend met de formule $IQP = (F_{slow} - F_{fast}) / F_{slow}$.

Korte beschrijving van de figuren

In figuur 1 is schematisch een inrichting voor het maken van chlorofylfluorescentiebeelden en het bepalen van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit van plantaardig materiaal weergegeven.

In figuur 2 worden drie chlorofylfluorescentiebeelden weergegeven die verkregen zijn met een inrichting volgens figuur 1 voor zwarte nachtschade. Panel A laat het resultaat zien van een aantal snelle scans; panel B laat het resultaat zien van een langzame scan; panel C geeft het resultaat van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit, berekend uit het beeld van panel A en B.

Gedetailleerde beschrijving

De onderhavige uitvinding is gebaseerd op een spectroscopische meting die zeer specifiek is voor het aanwezige chlorofyl en het functioneren van het fotosynthesesysteem. Het functioneren van het fotosynthesesysteem is zeer belangrijk voor het goed functioneren van een plant en de kwaliteit van de plant. Licht wordt ingevangen door de chlorofylmoleculen. Als de plant van goede kwaliteit is en geen stress ondervindt, zal de ingevangen energie van de chlorofylmoleculen snel worden doorgesluisd naar het fotosynthesesysteem voor omzetting in chemische energie. Chlorofyl heeft de eigenschap dat het fluorescentie vertoont. Als de energie voldoende snel door het fotosynthesesysteem kan worden verwerkt dan resulteert dit in een laag niveau van fluorescentielicht. Kan het fotosynthesesysteem de energie niet voldoende snel verwerken, dan zal het fluorescentielicht in sterkte toenemen. Bij het aanschakelen van een verzadigende lichtbron met elektromagnetische straling die geabsorbeerd wordt door het chlorofyl, is het zo dat wanneer het fotosynthesesysteem de energie snel kan verwerken de tijdsduur vanaf het aanschakelen van de lichtbron tot aan het maximum niveau van de uitgestraalde

fluorescentie, veel langer duurt, dan in het geval wanneer het fotosynthesesysteem de energie niet snel kan verwerken. Van deze eigenschap wordt nu gebruik gemaakt om de kwantum-efficiëntie van de fotosyntheseactiviteit te bepalen. De werkijze van de uitvinding maakt het mogelijk om beeldvormend de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit te meten van hele planten.

Bij de werkijze van de uitvinding wordt plantaardig materiaal bestraald met elektromagnetische straling met een zodanige golflengte dat ten minste een deel van het aanwezige chlorofyl wordt aangeslagen, bijvoorbeeld met elektromagnetische straling met een golflengte tussen 200 en 750 nm zoals laserlicht met een golflengte van ongeveer 670 nm. De fluorescentie wordt gemeten met een beeldvormende detector, bijvoorbeeld met een camera, tussen 600 en 800 nm, bijvoorbeeld rond 730 nm. De bundel van elektromagnetische straling kan bijvoorbeeld verkregen worden met een laser die een divergerende laserbundel produceert die door een beweegbare spiegel, bijvoorbeeld een roteerbare spiegel die gemonteerd is op een galvo en aangestuurd wordt door een computer, over het plantaardig materiaal wordt gescand. Er kan nu eerst met de laserlijn snel over het plantaardig materiaal gescand worden met een frequentie tussen ongeveer 1 Hz en ongeveer 10 kHz, bijvoorbeeld met een frequentie van 50 Hz, gedurende bijvoorbeeld 10 seconden. Gedurende die 10 seconden wordt de fluorescentie gemeten door een beelddetector. Dit beeld noemen wij de Ffast metingen wordt verstuurd naar de computer. Vervolgens kan een langzame scan gemaakt worden met een frequentie tussen ongeveer 0.01 en ongeveer 1 Hz, bijvoorbeeld een frequentie van 0.1 Hz gedurende dezelfde tijdsduur van 10 seconden. Gedurende deze 10 seconden wordt de fluorescentie weer gemeten door een beelddetector. Dit beeld noemen wij de Fslow meting en wordt eveneens naar de computer gestuurd. Uit deze twee beelden kan de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit (Imaging Quantum efficiency of Photosynthesis: IQP) berekend volgens:

$$IQP = (F_{slow} - F_{fast}) / F_{slow} \quad (1)$$

Met de computer wordt voor iedere beeldpixel van het plantaaardige materiaal de berekening volgens formule (1) uitgevoerd. Dit geeft het karakteristieke chlorofylfluorescentiebeeld als een intensiteitsverdeling van de kwantumeficiëntie van het fotosysteem van het plantaaardige materiaal. Als bij de meting de tijdsduur van de snelle scan niet gelijk is aan die van de langzame scan dient de berekening hiervoor gecorrigeerd te worden.

Voor het bestralen van het plantaaardig materiaal kan een laser, lamp of led-lamp worden gebruikt die het plantaaardig materiaal bestraalt met elektromagnetische straling in de vorm van een smalle lijn of andere vorm, zodanig dat bij een scan van de elektromagnetische straling het plantaaardig materiaal een klein gedeelte van het plantaaardig materiaal wordt bestraald en in een scan door het bewegen van de spiegel een groter deel van het plantaaardig materiaal of het plantaaardig materiaal in het geheel in een bepaalde tijdsperiode wordt bestraald. Voor de spiegel kan iedere beweegbare of roteerbare spiegel worden gebruikt, zodanig dat de elektromagnetische straling door de spiegel wordt gereflecteerd en over het plantaaardig materiaal wordt gescand. Voor het bewegen van de spiegel kan een elektrisch aanstuurbare galvo, beweegbare spiegel op verestaal, een polygoon spiegel of andere bekende constructie genomen worden. De van het plantaaardig materiaal afkomstige fluorescentiestraling kan gemeten worden met iedere geschikte beeldvormende detector, bijvoorbeeld een video-camera, CCD-camera, line scan camera of een aantal fotodiodes of photomultipliers.

De intensiteit en breedte en lengte van de elektromagnetische straling, ofwel het vermogen van de elektromagnetische straling per oppervlakte eenheid, die over het plantaaardige materiaal wordt gescand, worden bij voorkeur zo gekozen dat het fotosynthesesysteem bij een langzame scan wordt verzadigd. De frequenties behorende bij een langzame

en snelle scan worden dusdanig gekozen dat de waarde die wordt berekend voor de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit volgens formule (1) met een meting van een PAM-fluorometer van Schreiber binnen zekere grenzen overeen komt. De tijdsduur van het meten van een snelle en langzame scan kan worden genomen als de tijd die het duurt om een langzame scan te maken.

De uitvinding is zeer gevoelig, volledig niet-destructief en beeldvormend. Dit zijn de karakteristieken van de uitvinding die het mogelijk maken om een sorteering 10 van de uitvinding of classificeerinrichting te maken waarmee plant-aardig materiaal op basis van de IQP-meting geselecteerd of geklassificeerd kan worden. Omdat de IQP-meting een directe relatie heeft tot de kwaliteit van plantaardig materiaal 15 kan op kwaliteit gesorteerd of geklassificeerd worden. De uitvinding heeft derhalve ook betrekking op een werkwijze voor het scheiden of classificeren van plantaardig materiaal bestaande uit afzonderlijke componenten in meerder fracties elk met een verschillende kwaliteit, 20 waarbij voor elke component de karakteristieke beeldparameter wordt bepaald met een werkwijze of inrichting voor het bepalen van de kwaliteit van plantaardig materiaal volgens de uitvinding en de fracties van componenten met een karakteristieke beeldparameter in hetzelfde vooraf bepaalde 25 traject worden verzameld.

De uitvinding heeft verder betrekking op een inrichting voor het scheiden van plantaardig materiaal met de hiervoor genoemde werkwijze, omvattende een toevoerge-deelte voor het plantaardig materiaal, een gedeelte voor 30 het bestralen, een gedeelte voor het meten van de van het plantaardig materiaal afkomstige fluorescentiestraling ter verkrijging van het fluorescentiebeeld en beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit en een scheidingsgedeelte dat werkt op basis van het gemeten 35 beeld.

De uitvinding heeft verder betrekking op een inrichting voor het classificeren van plantaardig materiaal

met de hiervoor genoemde werkwijze, omvattende een bewegen-de constructie voor het lokaliseren van het plantaardig materiaal bijvoorbeeld een rijdende kar of robotarm, een gedeelte voor het bestralen, een gedeelte voor het meten van de van het plantaardige materiaal afkomstige fluores-centiestraling ter verkrijging van het fluorescentiebeeld en beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseacti-viteit en een classificatiegedeelte dat werkt op basis van het gemeten beeld.

Het te sorteren of classificeren materiaal kan bestaan uit hele planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten enz.. De fracties waarin het plantaardig materiaal gescheiden of geklassificeerd wordt, kunnen elk uit afzonderlijke hele planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten enz. bestaan.

De onderhavige uitvinding kan worden ingezet voor verfijnde doelstellingen, zoals vroege selectie van kiemplanten op stresstolerantie, geprogrammeerde toediening van herbiciden en kwaliteitscontrole in de kasteelt. De werkwijze volgens de uitvinding kan worden toegepast in het screenen van de plantkwaliteit in de kiemplantfase bij de kweker. Trays van kiemplanten kunnen worden getest. Kiemplanten van een lage kwaliteit kunnen worden verwijderd en vervangen door goede kiemplanten. De werkwijze volgens de uitvinding kan ook gebruikt worden voor selectie van kiemplanten op stressgevoeligheid door de trays te onderwerpen aan infectiedruk of aan abiotische stressfactoren en de signaalopbouw "on-line" te registreren. De speciale eisen die vanuit de biologische landbouw worden gesteld aan de kwaliteit van kiemplanten zijn in dit verband interes-sant. Aantastingen van plantaardig materiaal door ziekten kan in een zeer vroeg stadium in het chlorofylfluorescentie beeld worden gedetecteerd als een locale toename van de

fluorescentie. In het IQP-beeld wordt dit gedetecteerd als een locale afname van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit. Bij de veiling kunnen planten op kwaliteit worden gecontroleerd. Een snelle, niet-destructieve en objectieve methode voor het vaststellen van de potplantkwaliteit en de vaaskwaliteit van aangeleverde bloemen op de veiling of zelfs tijdens de teelt is van groot economisch belang. De bloemkwaliteit hangt af van de leeftijd, teelt en eventuele naoogstbehandeling die van invloed zijn op het IQP-beeld. De werkwijze volgens de uitvinding kan ook toegepast worden bij high-throughput-screening van modelgewassen (*Arabidopsis* en rijst) voor functional genomics onderzoek t.b.v. functie-analyse en trait identificatie. Een andere belangrijke toepassing voor de nieuwe vinding is te vinden in het bepalen van de versheid van groenten en vruchten en fruit en de aanwezigheid van aantastingen, bijvoorbeeld in de vorm van ziekten. Aantastingen vertonen in het IQP-beeld een lagere IQP-waarde dan de gezonde delen van het plantaardige materiaal.

In het algemeen is het zo, dat uit proeven moet worden vastgesteld op welke IQP-waarde in het beeld kan worden gesorteerd of geclassificeerd. In een proef van verschillende stadia van aantastingen wordt de IQP-waarde in het beeld van de aantasting gemeten en in verschillende klassen verdeeld. Daarna wordt tijdens de uitgroei of de bewaring van vastgesteld welke klassen een hoge kwaliteit oplevert. De gevonden drempelwaarde uit deze proef wordt gebruikt als waarde voor IQP om op te selecteren.

Een voorkeursuitvoeringsvorm van een inrichting voor het meten van de chlorofylfluorescentiebeelden en het berekenen van het beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit is weergegeven in figuur 1. Dit is een eenvoudige vorm die de inrichting kan hebben. Een laser met een golflengte tussen 200 en 750 nm, en bij voorkeur van 670 nm, (1) produceert een divergerende laserbundel die door een spiegel (2) wordt gereflecteerd in de richting van het plantaardig materiaal (4). De spiegel is op een galvo

gemonteerd en wel zo, dat de spiegel een rotatie kan maken. De galvo wordt door een computer (6) aangestuurd en wel zo, dat de laserlijn (3) die door de laser wordt gegenereerd over het plantaardig materiaal gescand kan worden. De
5 laserlijn heeft bij voorkeur een lengte die groter is dan de maximale breedte van het plantaardig materiaal. De laserlijn heeft tot doel om chlorofylmoleculen aan te slaan. Ten minste een deel van de chlorofylmoleculen raakt in een elektronisch aangeslagen toestand. Ten minste een deel van
10 de chlorofylmoleculen valt onder uitzending van fluorescencie terug naar de grondtoestand. De fluorescentie wordt met een camera gemeten die voorzien is van een optisch filter, geschikt om alleen licht tussen 600 en 800 nm, bijvoorbeeld rond 730 nm, door te laten. De werkwijze bestaat er nu uit,
15 dat er eerst de laserlijn snel over het object wordt gescand, bijvoorbeeld met een frequentie van 50 Hz en gedurende 10 seconden. Gedurende deze 10 seconden wordt de fluorescentie door de camera gemeten en na de meting uitgelezen door de computer. Dit beeld noemen wij de Ffast
20 meting. Vervolgens wordt een langzame scan gemaakt met bijvoorbeeld een frequentie van 0,1 Hz gedurende dezelfde tijdsduur van 10 seconden. Gedurende deze 10 seconden wordt de fluorescentie door de camera gemeten en na de meting uitgelezen door de computer. Dit beeld noemen wij de Fslow
25 meting. Uit deze twee beelden wordt de kwantumefficiëntie van het fotosynthesesysteem (IQP) berekend volgens formule (1) voor ieder pixel van het beeld.

Voor een deskundige zal het duidelijk zijn dat ook eerst een langzame scan kan worden uitgevoerd ter verkrijging van het beeld van de kwantumefficiëntie van het fotosynthesesysteem.
30

Een inrichting voor het sorteren van plantaardig materiaal volgens de uitvinding kan bestaan uit een lopende band voor de aanvoer van plantaardig materiaal naar het
35 meetgedeelte waar de bovenstaande fluorescentiemeting volgens de uitvinding wordt uitgevoerd waarna het plantaardige materiaal verder wordt vervoerd naar het scheidingsge-

deelte waarin de fracties waarvan het IQP-beeld niet binnen vooraf bepaalde grenzen ligt, met een op zich bekende wijze van de transportband worden verwijderd, bijvoorbeeld door een luchtstroom. De luchtstroom kan geregeld worden door 5 een klep die gestuurd wordt met een elektronische schakeling zoals een microprocessor die het signaal van het meetgedeelte verwerkt. Men kan het plantaardige materiaal ook scheiden in verschillende kwaliteitsklassen waarbij voor elke kwaliteitsklasse het IQP-beeld van het plantaardige materiaal binnen vooraf bepaalde grenzen ligt. De 10 grenzen kan men vaststellen door bijvoorbeeld van monsters van plantaardig materiaal met de gewenste kwaliteit of eigenschappen van het IQP-beeld te bepalen. De deskundige op dit gebied zal weten dat het te scheiden plantaardige 15 materiaal ook op andere wijze dan met een transportband door het meetgedeelte en scheidingsgedeelte kan worden vervoerd en dat diverse methoden beschikbaar zijn om diverse fracties uit de hoofdstroom te sorteren, zoals een luchtstroom, vloeistofstroom of mechanische klep. Het 20 plantaardige materiaal kan zich ook in bijvoorbeeld een vloeistof bevinden. In een vloeistof sorteren kan bijvoorbeeld gebeuren om zeer kwetsbaar plantaardig materiaal de kans op beschadigingen te minimaliseren, zoals appels, bessen en ander zacht fruit.

25 Er wordt verder op gewezen dat een inrichting voor het sorteren of classificeren van plantaardig materiaal, in bijvoorbeeld een kas of in het veld, volgens de uitvinding kan bestaan uit een inrichting die de planten langsloopt en doormeet op het IQP-beeld en vervolgens classificeert naar 30 kwaliteit en dit opslaat in een data base of het plantaardig materiaal van lage kwaliteit verwijderd. Een data base heeft tot doel om inzicht te krijgen in de kwaliteit van de gehele partij en snel de positie van de planten te kunnen opvragen die vallen binnen een bepaalde kwaliteitsklasse. 35 De bovengenoemde voorkeursinrichting voor de meting kan ook door een robotarm of een bekende inrichting zoals een karretje over het plantaardige materiaal worden bewogen met

tot doel het meten van afwijkingen in het plantaardige materiaal, zoals bijv. vroege detectie van ziekten. Detectie van een ziekte in bijv. planten kan worden vastgesteld doordat in een proef is aangetoond dat door de aantasting het fluorescentiesignaal op de aangetaste plek lokaal hoger is of het IQP-waarde lager is dan in het omliggende plantaardig materiaal. Daarna is proefondervindelijk vastgesteld welke hoeveelheid fungicide op de aantasting moet worden aangebracht om de ziekte te bestrijden. Met een spuitkop is het nu mogelijk om de ziekte met de onderhavige uitvinding geautomatiseerd te detecteren en lokaal te bestrijden door zeer gedoseerd en lokaal de aantasting te besproeien met een fungicide. Voordeel van de gebruikte methode is de verlaging van de hoeveelheid fungicide, zodat de planten niet preventief hoeven te worden besproeid met het fungicide.

Er wordt eveneens op gewezen dat de inrichting kan worden gebruikt voor het sturen van de teelt van planten door de regeling van het kasklimaat te koppelen aan de informatie die verkregen is met de werkwijze zoals hierboven beschreven is. Voordeel van de huidige uitvinding is dat de gehele plant in beeld wordt gebracht en dus een goede maat voor de kwantumefficiëntie van de fotosynthese activiteit berekend kan worden, dit in tegenstelling tot de PAM-fluorometer die slechts een klein gedeelte van een blad meet.

De uitvinding kan in iedere sorteerinrichting voor planten of fruit worden toegepast. Inbouw is mogelijk in alle sorteerinrichtingen en al dan niet automatisch voortbewegende karretjes of robots.

Voorbeeld 1

In dit voorbeeld wordt het effect van een herbicide behandeling beschreven op het chlorofylfluorescentiebeeld en het beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit. De fluorescentiebeelden werden gemeten met bovengenoemde voorkeursinrichting volgens figuur 1.

Figuur 2A toont het resultaat van het chlorofylfluorescentiebeeld van de snelle scan van een zwarte nachtschade plant waarop 48 uur eerder op ieder van een aantal bladeren een druppel van $3 \mu\text{l}$ herbicide oplossing is aangebracht. De 5 herbicide werking is in het beeld zichtbaar in het lokaal oplichten van de bladeren. Figuur 2B toont het resultaat van de langzame scan van dezelfde plant. Het beeld van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit is berekend met een computer voor iedere pixel van het beeld 10 volgens formule 1 uit de beelden van 2A en 2B. De donkere gebieden in het beeld van de bladeren zijn nog nauwelijks fotosynthetisch actief. De pixels hebben een waarde die ligt tussen ongeveer 0 en 0,3. De gezonde delen van de 15 plant vertonen wel een normale waarde van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit. De pixels hebben een waarde die ligt tussen ongeveer 0,7 en 0,85. Deze zijn te herkennen aan de lichte gebieden. Uit proeven is bekend bij 20 welke drempelwaarden voor de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit de bladeren dood gaan. Boven een zekere drempelwaarde van de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit zijn die plant onderdelen nog gezond. Beneden een zekere drempelwaarde gaan die plantonderdelen dood. Uit deze proef bleek dat de drempelwaarde 25 ongeveer 0,5 bedroeg. Voordeel van de onderhavige uitvinding is dat nu de hele plant wordt gemeten en dus een goede uitspraak kan worden gedaan over de totale kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit van de hele plant. Dit in tegenstelling tot de nu bekende methoden waarbij op een aantal plekken van de plant een spotmeting wordt uitgevoerd 30 of slechts een klein gedeelte van de plant in beeld wordt gebracht.

5

C O N C L U S I E S

1. Werkwijze voor het bepalen van de kwaliteit van
plantaardig materiaal door het bepalen van een chloro-
fylfluorescentiebeeld van dat plantaardige materiaal,
waarbij het plantaardige materiaal wordt bestraald met een
bundel van elektromagnetische straling die een of meer
zodanige golflengten omvat, dat ten minste een deel van het
aanwezige chlorofyl door ten minste een deel van de stra-
ling wordt aangeslagen, waarbij de bundel van elektromagne-
tische straling een zodanige vorm heeft dat slechts een
klein gedeelte van het plantaardige materiaal bestraald
wordt, en de bundel zodanig over het plantaardige materiaal
wordt bewogen dat een groter gedeelte van het plantaardige
materiaal wordt gemeten, waarbij de van het plantaardige
materiaal afkomstige fluorescentiestraling behorende bij de
chlorofylovergang met een beeldvormende detector gemeten
wordt ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij, in
willekeurige volgorde,

25 gedurende een bepaalde tijdsduur met de elektro-
magnetische bundel meerdere snelle scans over het plantaardig
materiaal gemaakt worden ter verkrijging van een
chlorofylfluorescentiebeeld Ffast, en

30 gedurende een bepaalde tijdsduur met de elektro-
magnetische bundel een langzame scan over het plantaardig
materiaal gemaakt wordt ter verkrijging van een chlorofyl-
fluorescentiebeeld Fslow, en vervolgens

35 uit de chlorofylfluorescentiebeelden Ffast en
Fslow het karakteristieke chlorofylfluorescentiebeeld dat
een maat is voor de efficiëntie van het fotosynthesesysteem
van het plantaardige materiaal, wordt berekend.

3. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij het karakteristieke chlorofylfluorescentiebeeld informatie bevat over de kwantumefficiëntie van de fotosyntheseactiviteit van het fotosynthesesysteem van het plantairde materiaal en dit beeld wordt berekend met de formule

$$IQP = (F_{slow} - F_{fast}) / F_{slow}.$$

4. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies waarbij de bundel de vorm heeft van een smalle lijn.

5. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de bundel zodanig wordt bewogen over het plantairde materiaal dat het gehele oppervlak van het plantairde materiaal wordt bestraald.

6. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de voor het bestralen van het plantairde materiaal gebruikte elektromagnetische straling een golflengte heeft tussen 200 en 750 nm.

7. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de voor het bestralen van het plantairde materiaal gebruikte elektromagnetische straling wordt opgewekt door een lamp, laser of led-lamp.

8. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de van het plantairde materiaal afkomstige fluorescentiestraling wordt gemeten tussen 600 en 800 nm.

9. Werkwijze volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de van het plantairde materiaal afkomstige fluorescentiestraling wordt gemeten met een elektronische camera bestaande uit een videocamera, CCD-camera, line scan camera of een aantal fotodiodes of photomultipliers.

10. Inrichting voor het bepalen van de kwaliteit van plantairdig materiaal met de werkwijze volgens een van de conclusies 1 - 9, omvattende eerste middelen voor het bestralen van het plantairde materiaal met een bundel van elektromagnetische straling die een of meer zodanige golflengten omvat dat ten minste een deel van het in het plantairde materiaal aanwezige chlorofyl wordt aangeslagen, eerste middelen voor het scannen van de bundel van

elektromagnetische straling over het plantaardige materiaal met een hoge scanfrequentie, eerste middelen voor het meten van de van het plantaardige materiaal afkomstige fluorescentiestraling ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld (Ffast) behorende bij de snelle scan, tweede middelen voor het bestralen van het plantaardige materiaal met een bundel van elektromagnetische straling die een of meer zodanige golflengten omvat dat ten minste een deel van het in het plantaardig materiaal aanwezige chlorofyl wordt aangeslagen, tweede middelen voor het scannen van de bundel van elektromagnetische straling over het plantaardige materiaal met een lage scanfrequentie, tweede middelen voor het meten van de van het plantaardige materiaal afkomstige fluorescentiestraling ter verkrijging van een chlorofylfluorescentiebeeld (Fslow) behorende bij de langzame scan en middelen voor het verwerken van de chlorofylfluorescentiebeelden.

11. Inrichting volgens conclusie 10, waarbij de eerste en tweede middelen voor het bestralen van het plantaardige materiaal bestaan uit dezelfde laser waarbij respectievelijk de laserlijn met hoge frequentie over het plantaardig materiaal wordt gescand en met een lage frequentie over het plantaardige materiaal wordt gescand, de eerste en tweede middelen voor het meten van de chlorofylfluorescentiebeelden bestaan uit een camera die verbonden is met een computer en de middelen voor het verwerken van de fluorescentiebeelden bestaan uit een computer voorzien van een programma voor het verwerken van de chlorofylfluorescentiebeelden van de snelle en langzame scan.

12. Werkwijze voor het scheiden van plantaardig materiaal bestaande uit afzonderlijke componenten in meerdere fracties elk met een verschillende kwaliteit, waarbij voor elke component een karakteristieke parameter wordt met de werkwijze volgens een van de conclusies 1 - 9 of de inrichting volgens conclusie 10 of 11 en de fracties van componenten met de karakteristieke parameter in hetzelfde vooraf bepaalde traject worden verzameld.

13. Werkwijze volgens conclusie 12, waarbij het plantaardige materiaal bestaat uit planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten.

5 14. Werkwijze volgens conclusie 13, waarbij elke afzonderlijke component bestaat uit afzonderlijke planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten.

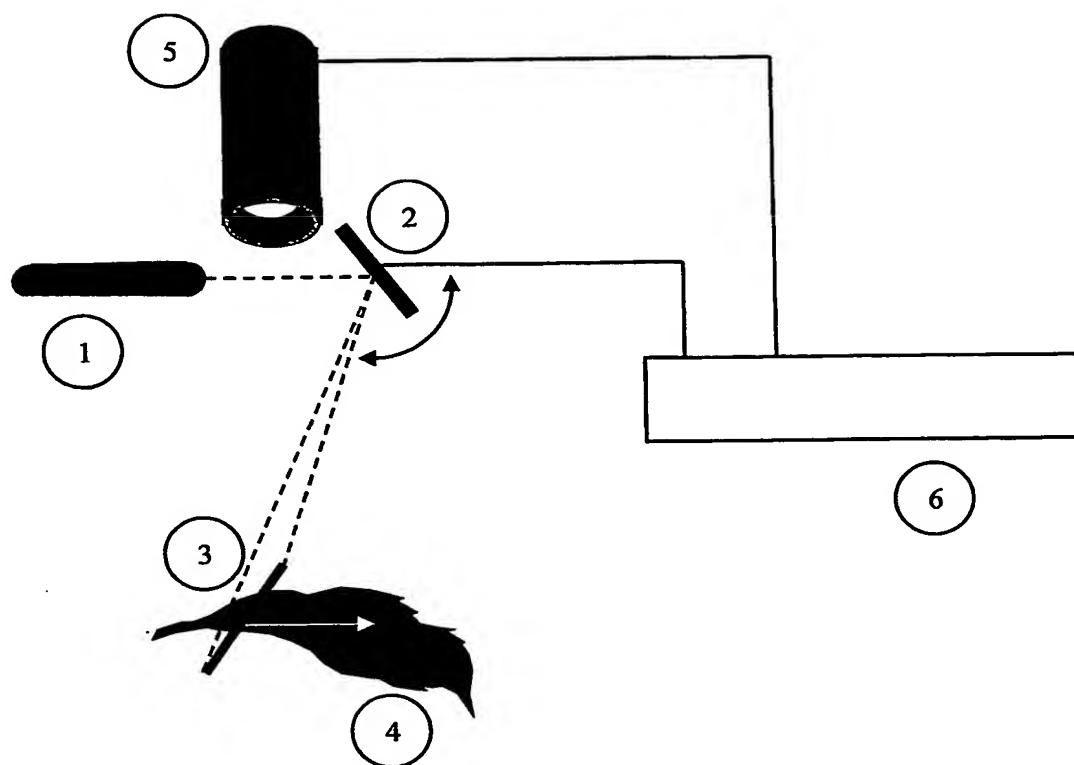
10 15. Inrichting voor het scheiden van plantaardig materiaal met de werkwijze volgens een van de conclusies 12 - 14, omvattende een toevoergedeelte voor het plantaardige materiaal, een gedeelte voor het bestralen van het plantaardig materiaal met elektromagnetische straling, een gedeelte voor het meten van de van het plantaardige materiaal afkomstige fluorescentiestraling ter verkrijging van een fluorescentiesignaal en een scheidingsgedeelte dat werkt op basis van het gemeten signaal.

15 16. Werkwijze voor het classificeren van plantaardig materiaal bestaande uit afzonderlijke componenten in meerdere fracties elk met een verschillende kwaliteit, waarbij voor elke component een karakteristieke parameter bepaald met de werkwijze volgens een van de conclusies 1 - 9 of de inrichting volgens conclusie 10 of 11 en de fracties van componenten met de karakteristieke parameter in hetzelfde vooraf bepaalde traject worden verzameld.

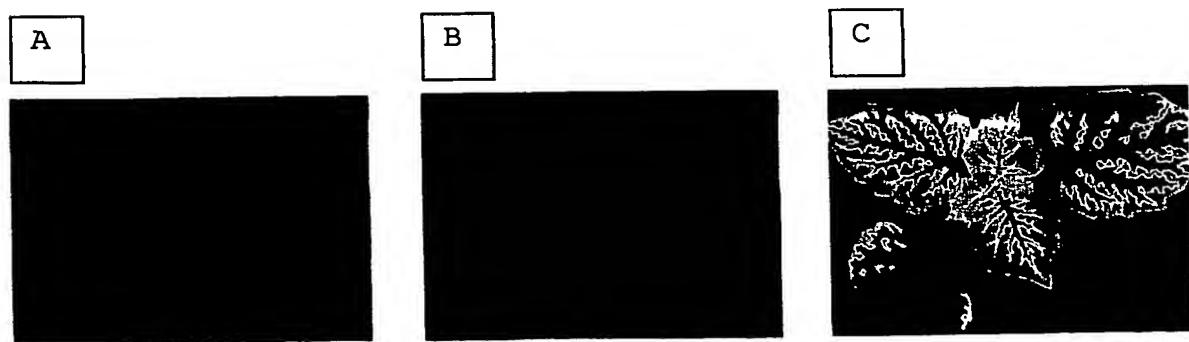
20 17. Werkwijze volgens conclusie 16, waarbij het plantaardige materiaal bestaat uit planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten.

25 18. Werkwijze volgens conclusie 17, waarbij elke afzonderlijke component bestaat uit afzonderlijke planten, snijbloemen, bladmateriaal, fruit, vruchten, bessen, groenten, bloemen, bloemorganen, wortels, weefselkweek, zaden, bollen, algen, mossen en knollen van planten.

19. Inrichting voor het classificeren van plant-aardig materiaal met de werkwijze volgens een van de conclusies 16 - 18, omvattende een bewegende constructie voor het lokaliseren van het plantaardig materiaal, een
5 gedeelte voor het bestralen van het plantaardige materiaal met een bundel van elektromagnetische straling, een gedeelte voor het meten van de van het plantaardige materiaal afkomstige fluorescentiestraling ter verkrijging van een fluorescentiesignaal en een classificatiegedeelte dat werkt
10 op basis van het gemeten signaal.



Figuur 1



Figuur 2

BEST AVAILABLE COPY